



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE BABAHOYO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERIA AGRONÓMICA



TRABAJO DE TITULACIÓN

Componente práctico del Examen de Grado de carácter Complexivo,
presentado al H. Consejo Directivo de la Facultad, como requisito
previo para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO

TEMA:

Bacillus subtilis para el control de *Rhizoctonia solani* en arroz (*Oryza sativa*) en la provincia de Los Ríos

AUTOR:

Mario Airto Rodríguez Ramírez

TUTORA:

Ing. Agr. Rosa Elena Guillén Mora, M.IA

Babahoyo - Los Ríos - Ecuador

2021

RESUMEN

El arroz en la canasta ecuatoriana es el producto de primer prioridad para toda la población nacional, lo que la convierte en la gramínea con mayor comercialización en el mercado interno. La provincia de Los Ríos es una región netamente agraria, y la actividad arrocera es una de las principales actividades agrícolas que se desarrollan en todos los cantones de la región. Por tanto, es el cultivo que genera oferta laboral de manera directa e indirecta en la zona rural y urbana de la provincia. El uso de microorganismos que controlan la presencia de esporas de hongos que ocasionan enfermedades en los cultivos de arroz, son de gran importancia su aplicación. La investigación fue sometida a técnica de análisis y resumen donde se trató todo lo referente al control de *Rhizoctonia solani* con el uso de la bacteria *Bacillus subtilis* como fungicida. En la provincia de Los Ríos existe una influencia en cuanto la dosificación utilizada sobre la presencia del hongo *Rhizoctonia solani* en los cultivos de arroz. Dosificaciones de 1,0 y 4,0 litros por hectárea del fungicida que contiene *Bacillus subtilis* como ingrediente activo, es efectivo para controlar el hongo nombrado, en cuanto la dosificación de 0,4 litros por hectáreas no es recomendable.

Palabras claves: *Oryza sativa*, *Bacillus subtilis*, *Rhizoctonia solani*, Los Ríos, Ecuador

SUMMARY

Rice in ecuadorian basket is the first main product for the entire national population, making it the most commercially marketed grass on the domestic market. The province of Los Ríos is a purely agrarian region, and rice activity is one of the main agricultural activities that take place in all cantons of the region. It is therefore the crop that generates labor supply directly and indirectly in the rural and urban area of the province. The use of microorganisms that control the presence of fungal spores that cause disease in rice crops, are of great importance their application. The research was subjected to analysis technique and summary where everything related to the control of *Rhizoctonia solani* was discussed with the use of *Bacillus subtilis* bacteria as fungicide. In the province of Los Ríos there is an influence as to the dosage used on the presence of the fungus *Rhizoctonia solani* in rice crops. Dosages of 1.0 and 4.0 liters per hectare of fungicide containing *Bacillus subtilis* as an active ingredient, is effective in controlling the named fungus, as the dosage of 0.4 liters per hectare is not recommended.

Keywords: *Oryza sativa*, *Bacillus subtilis*, *Rhizoctonia solani*, Los Ríos, Ecuador

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I	3
MARCO METODOLÓGICO.....	3
1.1. Definición del tema caso de estudio.....	3
1.2. Planteamiento del problema	3
1.3. Justificación	4
1.4. Objetivo.....	4
1.4.1. General	4
1.4.2. Específicos.....	4
1.5. Fundamentación teórica	4
1.5.1. Bacteria <i>Bacillus subtilis</i>	5
1.5.2. Filogenia y taxonomía de <i>Bacillus subtilis</i>	6
1.5.3. Ciclo de vida	7
1.5.4. Mecanismo de acción	11
1.5.5. Actividades inhibitoras del <i>Bacillus subtilis</i> sobre <i>Rhizotocnia solani</i> en arroz	13
1.6. Hipótesis.....	14
1.7. Metodología de la investigación	14
CAPÍTULO II	15
RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	15
2.1. Desarrollo del caso	15
2.2. Situaciones detectadas	15
2.2.1. <i>Bacillus subtilis</i> para el control de <i>Rhizoctonia solani</i> en arroz en la provincia de Los Ríos	15
2.3. Recomendaciones	16
BIBLIOGRAFÍA	18

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Imagen de microscopio electrónico de barrido de <i>Bacillus subtilis</i> 168, Zweera <i>et al.</i> (2008)	5
Figura 2. Filogenia NJ del compleje de especies <i>Bacillus subtilis</i> , Rooney <i>et al.</i> (2009). Los números en los puntos de sucursal indican porcentajes de arranque tanto de NJ (antes de la barra diagonal "/") como el ML (después de los análisis de la barra diagonal "/"). Solo se muestran al 50%. Debido a que el árbol ml era muy similar al árbol NJ, sólo este último se muestra aquí. <i>Bacillus cereus</i> se utilizó como taxón fuera del grupo para enraizar el árbol.	6
Figura 3. Tomado de Hornstra <i>et al.</i> (2009)	9
Figura 4. Tomado de Sabja <i>et al.</i> (2011)	10
Figura 5. Mecanismos de <i>Bacillus subtilis</i> en el control biológico del estrés biótico, Dotaniya <i>et al.</i> (2016)	13

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Identidad taxonómica de la bacteria <i>Bacillus subtilis</i>	7
Tabla 2. Estudios de aplicación de <i>Bacillus subtilis</i> como fungicida biológico para controlar enfermedades en arroz (<i>Rhizoctonia solani</i>) en la provincia de Los Ríos, Ecuador	15

INTRODUCCIÓN

La actividad agrícola se ha presentado como un factor determinante para el desarrollo ambiental, social y económico en todo el planeta; contribuyendo alrededor con el 80 % de los alimentos consumidos por la población mundial, según la FAO (2014). Pero el 20 % de la producción agrícola se ve afectada por plagas y enfermedades como bacterias, virus, nemátodos, hongos e insectos; conocidos como los principales agentes patógenos causantes de pérdidas en los cultivos (Pérez *et al.* 2011).

Los agricultores con su afán de combatir las enfermedades que aquejan sus cultivos, se ven obligados a utilizar métodos que conllevan el uso de compuestos químicos, tales como: nematicidas, insecticidas y fungicidas; como es de saber que estos productos han ocasionado impactos negativos en los ecosistemas agrícolas y muchas veces a la salud humana (Arellano y Rendón, 2016).

Existen diversas variedades descubiertas de especies del género *Bacillus* en el campo científico-agrícola, que mediante investigaciones se ha podido demostrar que este microorganismo posee una actividad antagónica contra otros microorganismos de géneros fitopatogénicos en cultivos agrícolas, tales como: arroz, maíz, banano y otros tropicales conocidos (Wang *et al.* 2014 y Li *et al.* 2014). El estudio del *Bacillus* dio inicio desde el momento que fue descubierta su actividad insecticida producida por las proteínas Cry segregada por el *B. thuringiensis*; y es en la actualidad que géneros conocidos como el *Bacillus subtilis* son ampliamente estudiadas con el propósito de atemperar enfermedades de gran importancia en el campo agrícola. Las vías por el cual estas cepas de microorganismos evitan el desarrollo y establecimiento de otros microorganismos del orden fitopatogénico, es a través de ciertos mecanismos de los que se incluyen A) la extracción de antibióticos, B) induciendo la resistencia sistemática de la planta, C) toxinas, D) enzimas líticas, E) sideróforos (Layton *et al.* 2011; Tejera *et al.* 2011; Raaijmakers y Mazzola 2012; Villareal *et al.* 2018).

La *Oryza sativa* L., conocida por su nombre común o vulgar como arroz, es

una de las gramíneas de gran consumo dentro de la canasta básica a nivel mundial, atribuyendo que su cultivo genera divisas e ingresos económicos para aquellos agricultores del sector rural que dedican tiempo al desarrollo de este vegetal. Y el Ecuador no esgrima en cuanto la producción de arroz, sembrando un aproximado de 343 936 hectáreas, con producciones que llegan a ser de 1 239 269 toneladas; y rendimientos de 3,92 toneladas por hectárea, según el INEC (2018).

El cultivo de arroz al igual que otros se encuentra expuesto a una gran variedad de agentes patógenos que ocasionan daños durante todas las etapas de desarrollo, el tizón tardío de la vaina o conocido también como añublo de la vaina, que es ocasionado por el hongo *Rhizoctonia solani*, el cual es considerado una gran amenaza en la producción arrocería. (Armijos 2007 y Ronquillo 2014).

La capacidad de microorganismo *Bacillus subtilis* en la formación de esporas, que de manera metabólica permanecen inactivas, pero, viables en condiciones adversas, convirtiéndolos idóneos para la elaboración de productos agrícolas que benefician a los cultivos. (Portela *et al.* 2013 y Corrales *et al.* 2017). La capacidad de esta bacteria es la de producir moléculas bioactivas, que de cierta manera han demostrado obtener propiedades antifúngicas, que presentan una baja toxicidad y alta bioseguridad durante su aplicación como ingrediente activo en agroproductos; induciendo a las plantas la producción de fitoalexinas, ayudándolas a ser resistentes al ataque de hongos, y entre ellos el ataque de la *Rhizoctonia solani* (Nagua, 2016).

El presente trabajo es una revisión documental que consiste proporcionar información sobre investigaciones que se han desarrollado en cuanto al uso de la bacteria *Bacillus subtilis* como un fungicida para el control de *Rhizoctonia solani* en cultivos de arroz de la provincia de Los Ríos, Ecuador.

CAPÍTULO I

MARCO METODOLÓGICO

1.1. Definición del tema caso de estudio

El trabajo de investigación tipo bibliográfico, se elaboró con la finalidad de fortalecer conocimientos sobre el uso de la bacteria *Bacillus subtilis* para controlar el hongo *Rhizoctonia solani* en cultivos de arroz de la provincia de Los Ríos, Ecuador.

1.2. Planteamiento del problema

El arroz en la canasta ecuatoriana es el producto de primer prioridad para toda la población nacional, lo que la convierte en la gramínea con mayor comercialización en el mercado interno. Pero no es la gramínea con mayor extensión de terreno cultivada, ese lugar lo ocupa el maíz amarillo.

La provincia de Los Ríos es una región netamente agraria, y la actividad arrocerera es una de las principales actividades agrícolas que se desarrollan en todos los cantones de la región. Por tanto, es el cultivo que genera oferta laboral de manera directa e indirecta en la zona rural y urbana de la provincia.

El ataque de plagas y enfermedades son agentes biológicos que ocasionan grandes pérdidas en el sector arrocerero de la zona en cuestión, la aplicación de productos químicos es muy común para los agricultores, y su elevado ocasiona posibles contaminaciones de la biodiversidad que se encuentra cerca de estos cultivos. El uso de microorganismos como la bacteria *Bacillus subtilis* es una alternativa para prevenir estos problemas ambientales. Además, de ser un organismo que ataca directamente en la reproducción de este hongo, que ocasiona severos daños en el arroz.

1.3. Justificación

La provincia de Los Ríos al poseer las mejores condiciones agroecológicas para instar con cultivos de producción agrícola, y entre ellos el arroz. Esta región posee la temperatura, clima y agua idóneas para cultivar arroz durante todo el año, convirtiéndose en una de las principales actividades agrícolas, generando ingresos al sector rural y urbano y fuentes de trabajo a toda persona que dedica su tiempo a esta labor.

El uso de microorganismos que controlan la presencia de esporas de hongos que ocasionan enfermedades en los cultivos de arroz, son de gran importancia su aplicación, debido que, a más de controlar es una manera de cuidar el medio ambiente. La bacteria *Bacillus subtilis* es una de ellas, que parte de ser aplicado para mejorar la absorción de micronutrientes en las plantas, también logra de manera directa reducir la producción de esporas de la *Rhizoctonia solani*, hongo de gran importancia, porque afecta con la calidad del arroz, lo que podría disminuir la actividad comercial arrocera en la región.

1.4. Objetivo

1.4.1. General

Fundamentar mediante revisión literaria el uso de la bacteria *Bacillus subtilis* para el control de *Rhizoctonia solani* en cultivares de arroz de la provincia de Los Ríos.

1.4.2. Específicos

- Determinar el uso de la bacteria *Bacillus subtilis* como controlador biológico.
- Identificar los resultados en diferentes casos de investigación ´presentados sobre la aplicación de *Bacillus subtilis* en el control de *Rhizoctonia solani* en cultivos de arroz en la zona de Los Ríos, Ecuador.

1.5. Fundamentación teórica

1.5.1. Bacteria *Bacillus subtilis*

Dando inicio con la literatura, es ineludible aludir, que la bacteria *Bacillus subtilis*, material de indagación de este trabajo bibliográfico; de acuerdo con estudios desarrollados por Zhang *et al.* (2014) y Takahiro *et al.* (2019), definen al *Bacillus subtilis* como una bacteria de Gram-positiva ampliamente utilizada en el campo de la investigación científica, correspondiendo a varias áreas en desarrollo como la agricultura, agroindustria, biogenética, fermentación industrial y la preparación tradicional de alimentos fermentados.

Elshagabee *et al.* (2017) y Ravikumar *et al.* (2018), manifiestan que el *Bacillus subtilis* es una bacteria aeróbica, que forma endosporas, y que pertenece a la familia Bacillaceae, considerado universalmente como un organismo modelo. Mientras que estudios posteriores realizados por Meima *et al.* (2004), Zeigler, (2008) y Zweers *et al.* (2008), han podido determinar que esta bacteria tiene forma de varilla esporulante (Fig. 1), mantiene un prospero ciclo vital en el suelo; aludiendo también, que la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos la ha registrado como una bacteria de estatus GRAS (Generalmente Reconocido como Seguro), por lo cual no es considerado patógeno. En su estudio “developments in the use of *Bacillus* species for industrial production” Schallmeyer *et al.* (2004), señalan que la primer aplicación del *Bacillus* remonta alrededor de mil años en la fermentación de la soya conocida como natto (plato tradicional de Japón), considerándolo como un material que prima en la producción industrial de procesos ancestrales.

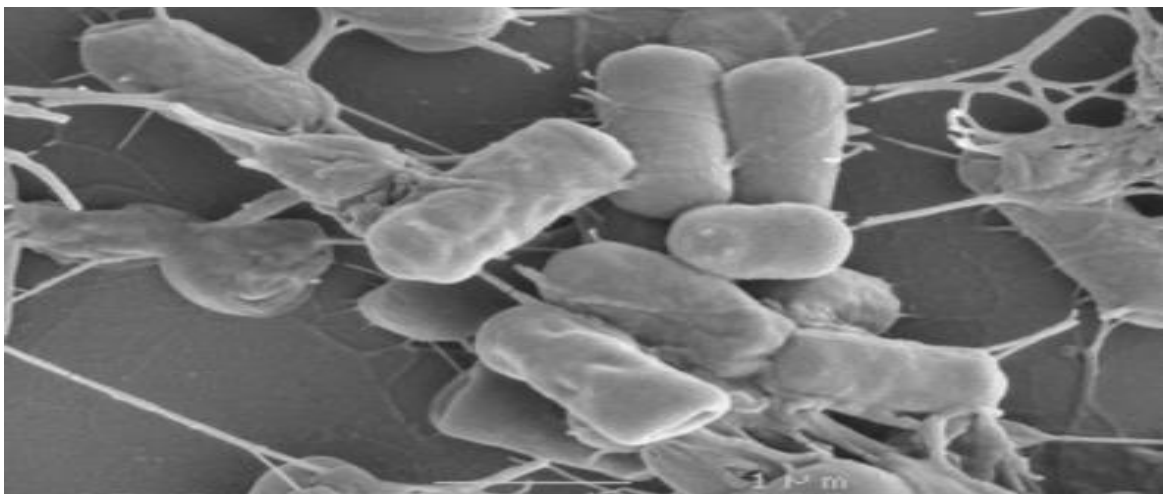


Figura 1. Imagen de microscopio electrónico de barrido de *Bacillus subtilis* 168, Zweera *et al.* (2008)

1.5.2. Filogenia y taxonomía de *Bacillus subtilis*

Rooney *et al.* (2009:32) señalan lo siguiente:

El género *Bacillus* se encuentra compuesto por bacterias formantes de endosporas que tienen forma de varilla, que pertenecen al filo Firmicutes (Fig. 2). Las especies se encuentran ampliamente extendidas en todos los entornos, siendo habitantes comunes del suelo y los sedimentos acuáticos. Las principales funciones de estas bacterias es implicar el ciclo del carbono y nitrógeno, algunas son patógenos de humanos y ganado (*Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*) y otros patógenos de insectos (*Bacillus thuringiensis*).

Cohn (1872:128): en su publicación: Untersuchungen uber bakterien, atribuyen que la “*Bacillus subtilis* es la especie comúnmente encontrada en todo medio ambiente”.

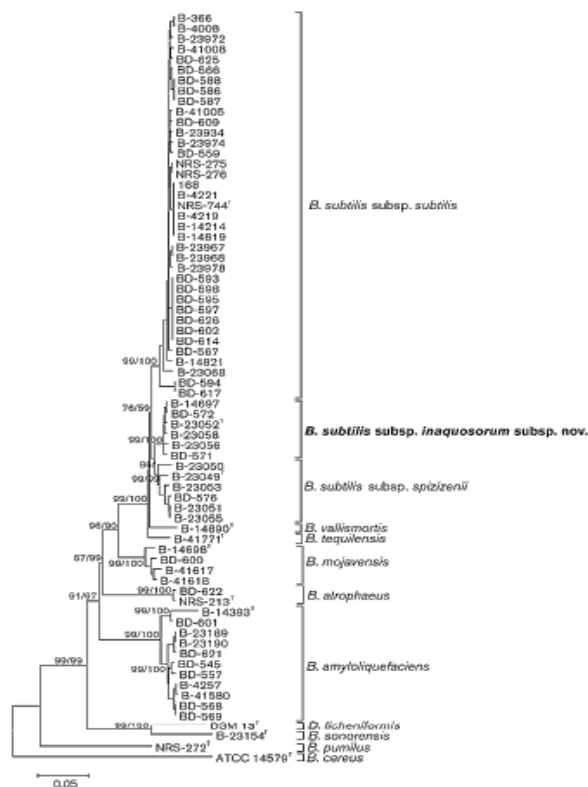


Figura 2. Filogenia NJ del compleje de especies *Bacillus subtilis*, Rooney *et al.* (2009). Los números en los puntos de sucursal indican porcentajes de arranque tanto de NJ (antes de la barra diagonal "/") como el ML (después de los análisis de la barra diagonal "/"). Solo se muestran al 50%. Debido a que el árbol ml era muy similar al árbol NJ, sólo este último se muestra aquí. *Bacillus cereus* se utilizó como taxón fuera del grupo para enraizar el árbol.

Tabla 1. Identidad taxonómica de la bacteria *Bacillus subtilis*

Nombres locales	Alemania: Antagonist: Bodenbuertige Pathogene; Epiphyt: rebe; Rhizoctonia Antibiosis: Fusskrankheiten (Fusarium)
Nombre científico	<i>Bacillus subtilis</i> Cohn, 1880
Árbol taxonómico	Dominancia: Bacteria Phylum: Firmicutes Clase: Bacilli Orden: Bacillales Familia: Bacillaceae Género: <i>Bacillus</i> Especie: <i>Bacillus subtilis</i>
Enemigo natural	<i>Aspergillus niger</i> <i>Diplodia seriata</i> <i>Meloidogyne incognita</i> <i>Ralstonia solanacearum</i> <i>Verticillium dahliae</i>

Fuente: Elaborado con base en Fossum *et al.* (1986), Horvath *et al.* (1986), Johnson *et al.* (1994), Agerholm *et al.* (1999)

1.5.3. Ciclo de vida

Como ya se había mencionado, los miembros *Bacillus subtilis* son capaces de formar endosporas. De acuerdo con los estudios realizados sobre esa bacteria (Sonenshein 2002; Merrill 2006; Jaenicke 2005; Earl *et al.* 2008), estas endosporas se transportan de manera sencilla con ayuda del aire, facilitando la migración de las esporas a distancias largas, para después crecer en los suelos o en cualquier lugar donde las esporas se acumulen, hasta que estas presenten nuevamente las condiciones propicias para su desarrollo su germinación y proliferación.

El ciclo de vida del *Bacillus subtilis* se encuentra formado por tres procesos fisiológicos: crecimiento vegetativo, esporádica y germinación; tres procesos fisiológicamente diferentes. Cada uno se inicia de acuerdo a la disponibilidad de nutrientes que la bacteria encuentra en el medio donde esta localizada; en ella se presentan señales que logran transmitir la información del acceso nutricional y de cierto modo la señal de tasa de crecimiento que se dirige a la maquinaria del ciclo celular de la bacteria, permitiendo que el microorganismo muestre constantemente su entorno y se ajuste al proceso del ciclo celular. (Moir 2006, Wang 2009, Rosenberg *et al.* 2012)

1.5.3.1. Esporulaci3n

Con respecto a las publicaciones de Moeller *et al.* (2011) y Veening *et al.* (2009), se evidenci3 que, existen multiples se~ales que se presentan para dar inicio a la esporulaci3n del *Bacillus subtilis*, tales como la privaci3n de nutrientes, alta composici3n de minerales, el pH neutro, temperatura y la alta celosidad; factores que pueden desencadenar la liberaci3n de las endosporas. En cuanto a las investigaciones de Errintong (2003), Setlow (2007) y Higgins (2012) afirman que el proceso de formaci3n de las esporas del *Bacillus subtilis* se obtiene en siete fases, que Hornstra *et al.* (2009:13) en su publicaci3n: "On the origin heterogenety in (preservation) resistance of *Bacillus spora*: imput for a systems analysis approach of bacterial spore outgrowth" lo expresa (Fig. 3) como el ciclo de vida del *Bacillus subtilis* donde incluye la germinaci3n, el crecimiento vegetativo y sus cambios morfol3gicos durante el proceso de esporaci3n.

- Fase I: El material nuclear se desecha axialmente en filamentos.
- Fase II: La finalizaci3n de la segregaci3n del ADN ocurre simult3neamente con la invaginaci3n de la membrana plasm3tica en una asim3trica posici3n, cerca de un polo de la c3lula, formando un tabique.
- Fase III: El tabique comienza a curvarse, y la espora inmadura insurre por una doble membrana de la c3lula madre en un proceso de engullimiento, similar a la fagocitosis, y la pr3tesis m3s peque~a se encuentra completamente contenida dentro de la c3lula madre.
- Fase IV: Se ensamblan las capas proeteicas internas y externas de las esporas, y se sintetiza la corteza de esporas.
- Fase V: La capa de esporas se sintetiza, que consiste en 80 prote3nas depositadas por la c3lula madre.
- Fase VI: Maduraci3n de las esporas, durante esta etapa, las esportas se vuelven resistentes al calor y a los disolventes rorg3nicos.
- Fase VI: Las enzimas l3ticas interrumpen la c3lula madre, librando esporas de la irmania. (Errintong (2003), Setlow (2007), Higgins, (2012)

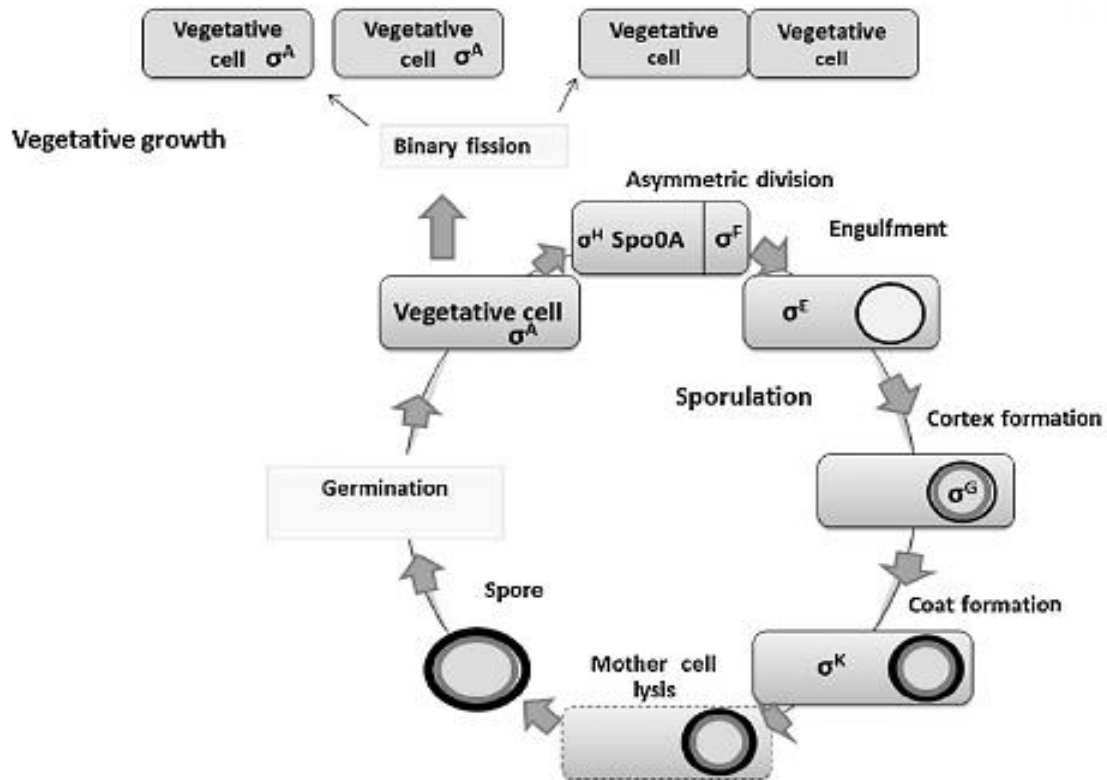


Figura 3. Tomado de Hornstra *et al.* (2009)

1.5.3.2. Germinación

Estudios (Setlow *et al.* 2003; Zhang *et al.* 2010; Sabja *et al.* 2011; Stewart 2013), han demostrado que las esporas de esta bacteria pueden permanecer latentes, durante largos periodos, hasta poseer una resistencia a los daños ambientales que se susisten, tales como la radiación, calor, productos tóxicos, ciertos químicos y niveles extremos de pH; y cuando estas esporas consideran que se encuentran en un ambiente favorable, esta rompe la latencia para iniciar con su proceso de crecimiento, denominado germinación de esporas y crecimiento, proceso que ocurre en tres fases; Sabja *et al.* (2011), la describe en una gráfica, sobre un modelo de flujo de información durante la germinación de esporas del *Bacillus subtilis* (Fig. 4).

- Fase I: La activación, definida como la respuesta de inicio o activación de la procesina a la reposición nutricional, incluidos los aminoácidos de bajo peso molecular, los azúcares y nucleósidos purinos, son percibidas por lo receptores de germinación, ubicados

en la membrana interna de la espora. Estos receptores incluyen: GerA, GerB, o GerK, y las moléculas germinantes unen estos receptores. L-alanina actúa a través del receptor GerA, y una mezcla de L-asparagina, fructosa, glucosa y LCL unen los receptores GerB y GerK.

- Fase II: DEPA (ácido piridina-2,6-dicarboxílico) se degrada y se alquila, seguido de la rehidratación del núcleo de esporas. La rehidratación permite iniciar la movilidad proteica y la reactivación de los procesos bioquímicos durante el crecimiento.
- Fase III: La hidrólisis de la capa de esporas permite la aparición de la célula vegetativa incipiente. (Setlow *et al.* 2003; Zhang *et al.* 2010; Sabja *et al.* 2011; Stewart 2013)

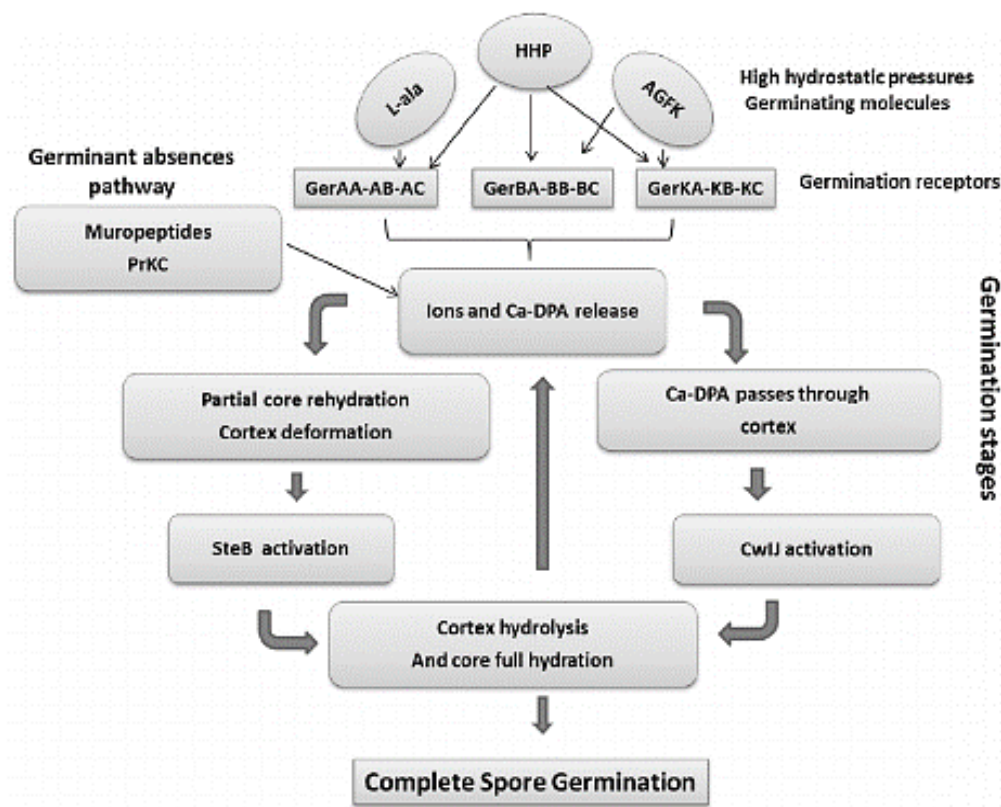


Figura 4. Tomado de Sabja *et al.* (2011).

Estudios (Kearns 2003; Yamazaki 2005; López *et al.* 2009; Kearns 2010; Marvasi *et al.* 2010; Tasaki *et al.* 2017; Tasaki *et al.* 2020), han manifestado que la bacteria *Bacillus subtilis*, forma colonias concéntricas. Durante su formación, el tipo de célula dominante para el crecimiento de colonias cambia periódicamente entre estados migratorios y no migratorios. En el caso de *B.subtilis*, el estado migratorio son las células móviles, y pueden nadar agrupando y rotando múltiples flagelos. En particular, el movimiento colectivo bidimensional llamado enjambre de células móviles juega un papel central en la rápida expansión del espacio durante la fase de migración del ciclo de vida. La mayoría de las células en estado no migratorio se denominan productoras de matriz, que no se mueven ni proliferan mientras producen matrices extracelulares.

1.5.4. Mecanismo de acción

Varios son los microorganismos que tienen la capacidad de suscitar el crecimiento de las plantas, por lo que se han comercializado en productos agrícolas para ser aplicados en los cultivos. Pues es conocido por los que emplean la práctica de cultivar la tierra, que existen otros microorganismos que son perjudiciales para las plantas, tales como: los nematos, virus, bacterias, e incluso organismos como insectos y malezas; causantes de ser fuentes de estrés bióticos de ellas, afectando en su vigor, ocasionando pérdidas antes y después de la cosecha de los cultivos. (Chaudhary *et al.* 2012; Tripathi *et al.* 2012; Goswami *et al.* 2016; Singla 2016)

Radhakrishnan *et al.* (2017:667), manifiestan que la fisiología vegetal indica, que las raíces de las plantas se encuentran cubiertas por una delgada lámina de suelo, la que denomina como rizósfera; lugar donde se dan inicios a importantes actividades biológicas, químicas y fisiológicas. Por tanto, es ineludible mencionar que la aplicación de microorganismos benéficos a la rizósfera es un factor positivo para la que la planta mejore la tolerancia al estrés abiótico.

Glick *et al.* (2007:821), en su publicación “Marking a life in the field of organization science” atribuyen que la bacteria *Bacillus subtilis* juega un papel importante en cuanto a mejorar la tolerancia al estrés abiótico en las plantas,

afirmando que:

“La inducción a la resistencia de enfermedades implica la expresión de genes y hormonas específicos, como la 1-aminociclopropano-1-carboxilato desaminasa (ACC), el etileno limita el crecimiento de raíces y brotes, y ayuda a mantener la homeostasis de la planta”.

Como se mencionó en literales anteriores, *Bacillus subtilis* es una bacteria grampositiva, estudios desarrollados por Stanley *et al.* (2003:1953), han podido demostrar que las diferentes cepas de *B. subtilis* sintetizan una variedad de enzimas hidrolíticas, incluidas, como celulasas, proteasas y β -glucanasas. Pero la publicación de Cazorla *et al.* (2007:1958) denominada “Isolation and characterization of antagonistic *Bacillus subtilis* strains from the avocado rhizosphere displaying biocontrol activity”, trabajo en que los autores aislaron la cepas antagonistas de esta bacteria del rizoplaneo de aguacate para mostrar las actividades de biocontrol, asumiendo que:

“Dado que el *Bacillus subtilis* tiene la capacidad de secretar antibióticos y enzimas hidrolíticas, este puede modificar su entorno de una manera auto-benéfica y también producir endosporas resistentes para mantenerse en condiciones adversas”

Hashem *et al.* (2019:1293), exteriorizaron con su trabajo de investigación la capacidad que tiene la *Bacillus subtilis* en exhibir su actividad de biocontrol, mencionándolo regularmente en tres factores:

- Vulnerabilidad del anfitrión
- Virulencia de patógenos
- El entorno

Los cambios en la expresión genética destacados en cualquier cambio

molecular de manera directa o indirectamente en los mecanismo que son expresados en la figura 5, como: la inducción de resistencia sistémica adquirida, modificar las actividades de ROS, estimular el potencial antioxidante, estimular los hongos AM y la solubilización de P, producción de bacteriocinas, producción de compuestos antibióticos lipopéptidos, producción de enzimas hidrolíticas de pared celular, producción de iturin A. (Dotaniya *et al.* 2016:270)

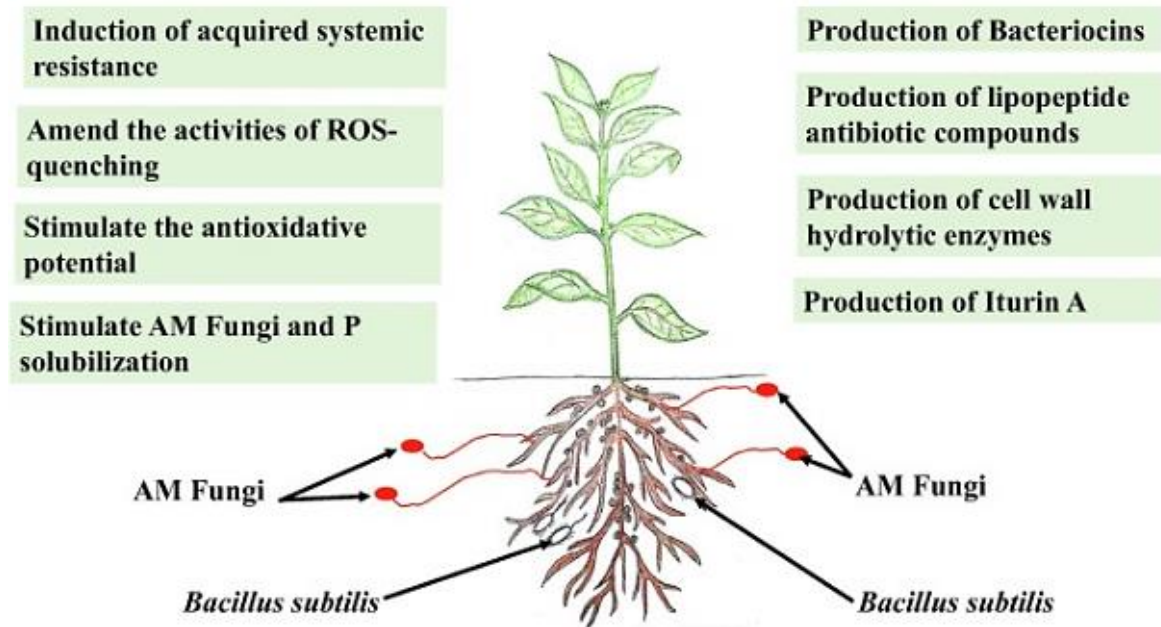


Figura 5. Mecanismos de *Bacillus subtilis* en el control biológico del estrés biótico, Dotaniya *et al.* (2016)

1.5.5. Actividades inhibitoras del *Bacillus subtilis* sobre *Rhizotocnia solani* en arroz

En cuanto al modelo de acción de las propiedades antifungicidas que son producidas por la *Bacillus subtilis* NSRS 89-24 frente a los hongos patógenos del arroz, Leelasuphakul *et al.* (2006:995) citado por Nagua (2016) menciona lo siguiente:

“Las observaciones microscópicas de los procesos que ocurren después del tratamiento con estos agentes han demostrado inflamación anormal de las hifas, lisi y la degradación completa de la punta de las hifas, además la interferencia de las germinaciones de conidios y esclerocios. Estas observaciones

indican que los objetivos para compuestos antifúngicos están en la pared celular de los hongos en cada vértice de las hifas. El vértice de las hifas se compone de quitina, β -Glucanos y otros compuestos de oligosacáridos. El β -Glucanasa producida por esta cepa de *Bacillus subtilis* juega un papel decisivo en la degradación de las paredes celulares de los hongos”

1.6. Hipótesis

Ho= La actividades inhibitoras de la bacteria *Bacillus subtilis* no resultan efectivas para el control de *Rhizoctonia solani* en cultivos de arroz de la provincia de Los Ríos

Ha= Las actividades inhibitoras de la bacteria *Baciullus subtilis* resultan efectivas para el control de *Rhizoctonia solani* en cultivos de arroz de la provincia de los Ríos.

1.7. Metodología de la investigación

El trabajo se desarrolló como componente práctico para el proceso de titulación, se realizó de acuerdo con investigaciones recopiladas de artículos científicos, revistas, periódicos académicos, congresos y páginas dspaces. La búsqueda fue sometida a técnica de análisis y resumen donde se trató todo lo referente al control de *Rhizoctonia solani* con el uso de la bacteria *Bacillus subtilis* como fungicida.

Los métodos inductivo-deductivo y analítico-sintético, son los que se tomaron en cuenta para el desarrollo de esta investigación de tipo descriptiva-documental, bajo la modalidad cualitativa.

CAPÍTULO II

RESULTADOS DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Desarrollo del caso

La investigación presente se ejecutó con el propósito de determinar el uso de la bacteria *Bacillus subtilis* como controlador orgánico de *Rhizoctonia solani* en cultivos de arroz de la provincia de Los Ríos.

2.2. Situaciones detectadas

2.2.1. *Bacillus subtilis* para el control de *Rhizoctonia solani* en arroz en la provincia de Los Ríos

Este género de bacteria corresponde a una de las especies responsables del control de enfermedades y plagas que asotan a cultivos, se encuentran libres en los suelos, alcanzando alrededor del 24 % del total de bacterias aisladas en el suelo. Entre las ventajas que proporciona a las plantas la presencia de esta bacteria se encuentra el control biológico de microorganismos fitopatógenos, la participación en la nutrición mineral y la fijación biológica del nitrógeno (Orberá, *et al* 2005:189).

La provincia de Los Ríos ubicada en la zona centro del Ecuador, y conocido por sus actividades agrícolas; entre ellas la actividad arrocera, produciendo grandes extensiones de este cultivo, convirtiendo a la provincia en una de regiones con mayor oferta agrícola de esta gramínea en el país. Y los cuidados fitosanitarios son imprescindibles, en cuanto a enfermedades ocasionada por el hongo *Rhizoctonia solani* que es uno de los hongos más comunes en este cultivo. Una recopilación donde implica información necesaria sobre aplicaciones de fungicidas cuyo ingrediente activo es la bacteria *Bacillus subtilis*, en la provincia de Los Ríos (Tabla 2).

Tabla 2. Estudios de aplicación de *Bacillus subtilis* como fungicida biológico para controlar enfermedades en arroz (*Rhizoctonia solani*) en la provincia de Los Ríos, Ecuador

Región	Ingrediente activo	Dosis	<i>Rhizoctonia solani</i>		Fuentes
			Presente	Ausente	
Norte	<i>Bacillus subtilis</i>	1,0 L/ha		x	(Rodríguez M. , 2017)
Centro		0,4 L/ha	x		(López J. , 2018)
Sur		3 L/ha		x	(Rodríguez, y otros, 2017)

Fuente: Elaborado con base en Rodríguez (2017), López (2018) y Rodríguez y otros (2017)

Las investigaciones mencionadas en la tabla 6, desde un punto de vista técnico puede observarse que existe una influencia en cuanto la dosificación utilizada sobre la presencia del hongo *Rhizoctonia solani* en los cultivos de arroz de la provincia de Los Ríos. Determinando que las dosificaciones mencionadas de 1,0 y 4,0 litros por hectárea del fungicida que contiene *Bacillus subtilis* como ingrediente activo, es efectivo para controlar el hongo nombrado, en cuanto la dosificación de 0,4 litros por hectáreas no es recomendable, debido que al aplicarla existe una presencia de los síntomas ocasionados por *Rhizoctonia solani*.

2.3. Conclusiones

- Los trabajos de investigación orientados sobre el tema de control de *Rhizoctonia solani* con la bacteria *Bacillus subtilis* son escasos como tema de exploración científica por parte de las instituciones de educación superior de la provincia de Los Ríos, siendo este un hongo muy común en la producción arrocería de la región.
- Las aplicaciones de productos a base *Bacillus subtilis* son recomendables en dosificaciones no menores de 0,4 litros por hectárea para el control de *Rhizoctonia solani*
- Rangos superiores de dosificación de fungicidas que contienen como ingrediente activo *Bacillus subtilis*, dosis entre 1 – 4 litros por hectárea son idóneos para el control del *Rhizoctonia solani* en cultivos de arroz de la provincia de Los Ríos

2.4. Recomendaciones

Como posible solución se recomienda lo siguiente:

- Desarrollar investigaciones sobre el control de *Rhizoctonia solani* con *Bacillus subtilis* en los sectores arroceros de la provincia de Los Ríos, debido que es un tema poco elaborado por las instituciones de educación superior de la región provincial.
- Aplicar dosificaciones mayor a 0,4 litros por hectárea en los cultivos de arroz de *Bacillus subtilis*
- Los rangos de 1-4 litros por hectárea de productos con ingrediente activo (*Bacillus subtilis*) es recomendable para prevenir la presencia del hongo *Rhizoctonia solani* en el arroz.

BIBLIOGRAFÍA

- Agerholm, J., Jensen, N., Dantzer, V., Jensen, H., & Aarestrup, F. (1999). Experimental infection of pregnant cows with *Bacillus licheniformis* bacteria. *Veterinary Pathology*, 36(3), 191-201.
- Arellano, O., & Rendón, O. (2016). *La huella de los plaguicidas en México*. (E. Martínez, Ed.) México: Greenpeace México.
- Armijos, F. (2007). *Enfermedades fungosas del arroz. Manual de Cultivo de Arroz*. INIAP, Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias.
- Cazorla, F., Romero, D., Pérez, A., Lugtenberg, A., Vicente, A., & Bloemberg, G. (2007). Isolation and characterization of antagonistic *Bacillus subtilis* strains from the avocado rhizosphere displaying biocontrol activity. *Journal Appl. Microbiol.*, 103(5), 1950-1959.
- Chaudhary, D., Kumar, A., Mandhania, S., Srivastava, P., & Kumar, R. (2012). Maize as fodder? An alternative approach? *Techn. Bull.*, 4, 32.
- Cohn, F. (1872). Untersuchungen uber bakterien. *Journal Beirt Biol Pflanz*, 1, 127-144.
- Corrales, L., Lozano, L., Gómez, M., Ramos, S., & Rodríguez, J. (2017). *Bacillus* spp.: Una alternativa para la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos. *Revista ORCID*, 15(27), 45-65.
- Dotaniya, M., Meena, V., Basak, B., & Meena, R. (2016). Potassium uptake by crops as well as microorganisms. *Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture: Springer*, 267-280.
- Earl, A., Losick, R., & Kolter, R. (2008). Ecology and genomics of *Bacillus subtilis*. *HHS Public Access*, 16(6), 269-280. Obtenido de DOI: 10.1016/j.tim.2008.03.004
- Elshaghabe, F., Rokana, N., Gulhane, R., Sharma, C., & Panwar, H. (2017). *Bacillus* As Potential Probiotics: Status, Concerns, and Future Perspective. *Journal Front Microbiol.*, 8(1490), 1-15. Obtenido de <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.0149>
- Errington, J. (2003). Regulation of endospore formation in *Bacillus subtilis*. *Nat. Rev. Microbiol.*, 1(1), 18-26.
- FAO. (2014). *El estado mundial de la agricultura y la alimentación*. Food and

- Agriculture Organization of the United Nations. Roma: Viale delle Terme di Caracalla 00153. Recuperado el marzo de 2021, de <http://www.fao.org/3/ai4040s.pdf>
- Fossum, K., Herikstad, H., Binde, M., & Pettersen, K. (1986). Isolation of *Bacillus* in connection with bovine mastitis. *Nordisk Veterinaermedicin*, 34(1), 29-35.
- Glick, W., Miller, C., & Cardinal, L. (2007). Marking a life in the food of organization science. *Journal Organiz. Behav*, 28, 817-835.
- Goswami, D., Thakker, J., & Dhandhukia, P. (2016). Portraying mechanics of plants growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent Food Agric*, 2(1), 1-19.
- Hashem, A., Tabassum, B., & Abd_Allah, E. (2019). *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. 26(6), 1291-1297. Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2019.05.004>
- Higgins, D., & Dworkin, J. (2012). Recent in *Bacillus subtilis* sporulation. *FEMS Microbiol.*, 194(99), 31-48.
- Hornstra, L., Beek, A., Smelt, J., Kallemein, W., & Brul, S. (2009). On the origin heterogeneity in (preservation) resistance of *Bacillus* spores: input for a systems analysis approach of bacterial spore outgrowth. *Int. Journal Food Microbiol.*, 13(4), 9-15.
- Horvath, G., Toth-Marton, E., Mészáros, M., & Quarini, L. (1986). Experimental *Bacillus cereus* mastitis in cows. *Acta Veterinaria Hungarica*, 34(1), 29-35.
- INEC. (2018). *Base de datos agropecuarios Ecuador*. (INEC) Recuperado el marzo de 2021, de Instituto Nacional de Estadísticas y Censos: <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/censo-nacional-agropecuario>
- Jaenicke, R. (2005). Abundance of cellular material and proteins in the atmosphere. *Science* (73), 308.
- Johnson, C., Lupson, G., & Lawrence, K. (1994). The bovine placentome in bacterial and mycotic abortions. *Veterinary Record*, 134(11), 263-266.
- Kearns, D. (2010). Field guide to bacterial swarming motility. *Nat. Jour. Microbiol.*, 8, 634-644.
- Kearns, D., & Losick, R. (2003). Swarming motility in undomesticated *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol. Journal*, 49, 581-590.
- Layton, C., Maldonado, E., Monroy, L., Corrales, L., & Sánchez, L. (2011). *Bacillus* spp.: Perspectiva de su efecto bioconcentrador mediante ambiosis en cultivos afectados por fitopatógenos biocontrolador mediante ambiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. *Revista NOVA Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*, 9, 177-187. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.22490/24629448.501>

- Leelasuphakul, W., Sivanunsakul, P., & Phongpaichit, S. (2006). Purification, characterization and synergistic activity of B-1, 3-glucanase and antibiotic extrac from an antagonistic *Bacillus subtilis* NSRS 89-24 AGAINST RICE AND SHEATH BLIGHT. *Enzyme and Microbial Technology*, 38(7), 990-997. Obtenido de <http://doi.org/10.1016/j.enzmitec.2005.02.030>
- Li, B., Li, Q., Xu, Z., Zhang, N., Shen, Q., & Shang, R. (2014). Response of beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 to different soilborne fungal pathognes through the alteration of antifungal compounds production. *Frointiers in Microbiology*. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2014.00636>
- López, D., Vlamakis, H., & Kolter, R. (2009). Generation of multiple cell types in *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiol. Journal*(33), 153-162.
- López, J. (2018). *Efecto de tres biorreguladores (Micor-9, Thricoderma-4 y Bacillus-5), sobre patógenos en el cultivo de arroz*. Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Agrarias.
- Marvasi, M., Visscher, P., & Casillas, L. (2010). Expopolymeric sustancias (EPS) from *Bacillus subtilis*: polymers and genes encoding their synthesis. *FEM Microbiol. Journal*, 313, 1-9.
- Meima, R., Van Dijn, J., Holsappel, S., & Bron, S. (2004). *Expression systems in Bacillus. Expression technologies: Current status and future trends*. (F. Baneux, Ed.) Wyomndham, UK.: Horizon Scientific Press.
- Merrill, L. (2006). Composition of bacillus species in aerosols from 11 US cities. *Journal of forensic sciencies*, 51, 559-565.
- Moeller, R., Wassmann, M., Reitz, G., & Setlow, P. (2011). Effect of radioprotective agents in sporulation medium on *Bacillus subtilis* spore resistance to hydrogen peroxide, wet heat and germicidal and enviromentally relevant UV radiation. *Jorunal Appl Microbiol*, 110(14), 85-94.
- Moir, A. (2006). How do spares germinate. *Journal Appl. Microbiol.*, 101, 1-5.
- Nagua, E. (2016). *Uso de la bacteria Bacillus subtilis como agente de control biológico de hongos fitopatógenos en cultivos tropicales*. Trabajo de titulación previo para la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, Universidad Técnica de Machala, Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias, Carrera de Ingeniería Agronómica, Ecuador.
- Orberá, T., Pérez, P., Ferrer, D., Cortés, N., & González, Z. (2005). Aislamiento de cepas del género *Bacillus* sp. con potencialidades para la bioprotección y la estimulación del crecimiento vegetal. *Revista Cubana de Química*, 17(1), 189-195.

- Pérez, A., Romero, D., & Vicente, A. (2011). Plant protection and growth simulation by microorganisms: Biotechnological applications of Bacilli in agriculture. *Current Opinion in Biotechnology*, 22, 187-193. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.011>
- Portela, D., Chaparro, A., & López, S. (2013). LA biotecnología de *Bacillus thuringiensis* en la agricultura. *Revista NOVA*(11), 87-96.
- Raajimakers, J., & Mazzola, M. (2012). Diversity and Natural Functions of Antibiotics Produced by Beneficial and Plant Pathogenic Bacteria. *Annual Review of Phytopathology* , 50, 403-424. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.1146/annurevphyto-081211-172908>
- Radhakrishnan, R., Hashem, A., & Abd_Allah, E. (2017). *Bacillus*: a biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. *Front Physiol.*, 8, 667.
- Ravikumar, V., Nalpas, N., Anselm, V., Krug, K., Lenuzzi, M., Sestak, M., . . . Macek, B. (2018). In-depth analysis of *Bacillus subtilis* proteome identifies new ORFs and traces the evolutionary history of modified proteins. *Journal Scientific Reports. Italy*, 8(17246), 1-11. Obtenido de DOI: 10.1038/s41598-018-35589-9
- Rodríguez, j., Colina, E., Castro, C., García, G., Uvidia, M., & Santana, D. (2017). Eficiencia agrónomica del arroz INIAP-17 con niveles de fertilización química y biológica en el Litoral Ecuatoriano. *Revista Ciencia e Investigación*, 2(6), 10-15.
- Rodríguez, M. (2017). *Respuesta del cultivo de arroz (Oryza sativa), a la aplicación de microorganismos promotores del crecimiento vegetal bajo condiciones de riego, en Vinces-Ecuador*. Proyecto de investigación obtener título Ingeniera Agrónoma, Universidad de Guayaquil , Facultad de Ciencias para el Desarrollo, Carrera de Ingeniería Agronómica, Vinces, Ecuador.
- Ronquillo, J. (2014). *Búsqueda de alternativas para el manejo integrado del tizón de la avaina (Rhizoctonia solani kuhu) en arroz (Oryza sativa)*. Tesis de grado previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo, Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Agrarias, Guayaquil, Ecuador. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/4166/1/TESIS%20EN%20ARROZ%20JUAN%20RONQUILLO%20S%20C%2081NCHEZ%202014.pdf>
- Rooney, A., Prince, N., Ehrhardt, C., Swezey, J., & Bannan, J. (2009). Phyloheny and molecular taxonomy of the *Bacillus subtilis* species complex and description of *Bacillus subtilis* subsp. *inaquosorum* subsp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59, 2429-2436. Obtenido de DOI: 10.1099/ijs.0.009126-0
- Rosenberg, A., Sinai, L., Smith, Y., & Ben, Y. (2012). Dynamic expression of the

- translational machinery during *Bacillus subtilis* life cycle at a single cell level. *PLOS ONE*, 7. Obtenido de DOI: e41921
- Sabja, D., Setlow, P., & Sarker, M. (2011). Germination of spores of Bacillales and Clostridiales species: mechanisms and proteins involved. *Journal Trends Microbiol*, 19, 85-94.
- Schallmeyer, M., Singh, A., & Ward, O. (2004). developments in the use of *Bacillus* species for industrial production. *Can J Microbiol*, 50, 1-17. Obtenido de DOI: 10.1139/w03-076
- Setlow, P. (2007). I will survive: DNA protection in bacterial spores. *Trends Microbiol*, 15(17), 72-80.
- Setlow, R., Cowan, A., & Setlow, P. (2003). Germination of spores of *Bacillus subtilis* with dodecylamine. *Journal Appl. Microbiol.*, 95(6), 37-48.
- Singla, J., & Krattinger, S. (2016). Biotic stress resistance genes in wheat. (C. Wrigley, J. Faubion, H. Corke, & K. Seetharaman, Edits.) *Encyclopedia of Food Grains*, Elsevier, 388-392. Obtenido de DOI: 10.1016/B978-0-12-394437-5.00229-1
- Sonenshein, A. (2002). *Bacillus subtilis* and its closest relatives: From genes to cells. *ASM Press*.
- Stanley, N., Britton, R., Grossman, A., & Lazazzera, B. (2003). Identification of catabolite repression as a physiological regulator of biofilm formation by *Bacillus subtilis* by use of DNA microarrays. *Journal Bacteriol.*, 185(6), 1951-1957.
- Stewart, K., & Setlow, P. (2013). Numbers of individual nutrient germinant receptors and other germination proteins in spores of *Bacillus subtilis*. *Journal Bacteriol.*, 195(7), 84-91.
- Takahiro, Y., Mitsuhiro, I., Hiroto, M., & Masakazu, K. (2019). Optimization of RK2-based gene introduction system for *Bacillus Subtilis*. *Journal Gen. Appl. Microbiol. Japón*, 62, 265-272. Obtenido de doi 10.2323/jgam.2018.11.005
- Tasaki, S., Nakayama, M., & Shoji, W. (2017). Morphologies of *Bacillus subtilis* communities responding to environmental variation. *Dev. Growth Differ*, 59, 369-378.
- Tasaki, S., Nakayama, M., Takagi, I., & Shoji, W. (2020). Life cycle of *Bacillus subtilis* population: biofilm life cycle generation and response to environmental pH. *BioRxiv*, 1-26. Obtenido de <http://doi.org/10.1101/2020.09.11.292474>
- Tejera, B., Rojas, M., & Heydrich, M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la producción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 42(3), 131-138.

- Tripathi, D., Singh, V., Kumar, D., & Chauhan, D. (2012). Impact of exogenous silicon addition on chromium uptake, growth, mineral elements, oxidative stress, antioxidant capacity, and leaf and root structures in rice seedlings exposed to hexavalent chromium. *Acta Physiol. Plant.*, 34(1), 279-289.
- Veening, J., Murray, H., & Errington, J. (2009). Mechanism for cell cycle regulation of sporulation initiation in *Bacillus subtilis*. *Genes Dev.*, 23(19), 59-70.
- Villareal, M., Villa, E., Cira, L., & Estrada, M. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(1), 95-138. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>
- Wang, J., & Levin, P. (2009). Metabolism, cell growth and the bacterial cell cycle. *Nat. Rev. microbiol.*, 8(22), 7.
- Wang, X., Wang, L., Wang, J., Jin, P., Liu, H., & Zheng, Y. (2014). *Bacillus cereus* AR 156-Induced Resistance to *Colletotrichum acutatum* . *Is Associated with Priming of Defense Response in Loquat Fruit*, 7(11). Obtenido de [doi:http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0112494](http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0112494)
- Yamazaki, H. (2005). Periodic growth of bacterial colonies. *Physica D: Nonlinear Phenomena*, 205, 136-153.
- Zeigler, D., & Perkins, J. (2008). *Bacillus. Practical Handbook of Microbiology* (Second ed.). (E. Goldman, & L. Green, Edits.) Boca Raton, FL, EE.UU: Press.
- Zhang, P., Garner, W., Yi, X., Yu, J., Li, Y., & Setlow, P. (2010). Factors affecting variability in time between addition of nutrient germinant and rapid dipicolinic acid release during germination of spores of *Bacillus* species. *Journal Bacteriol.*, 192(360), 8-19.
- Zhang, X., You, C., & Zhang, Y. (2014). transformation of *Bacillus subtilis*. *Methods Mol. Biol.*, 1151, 95-101.
- Zweers, J., Barák, I., Becher, D., Driessen, A., Hecker, M., Kontinen, V., . . . Van Dijk, J. (2008). Towards the development of *Bacillus subtilis* as a cell factory for membrane proteins and protein complexes. *Journal BioMed Central: Microbial Cell Factories*, 7(10), 1-20. Obtenido de DOI: 10.1186/1475-2859-7-10